

# РАЗДЕЛ II

## ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

---

УДК 544.7:54.06

**Кострюкова Т.С.<sup>1,2</sup>, Логинова О.Д.<sup>1</sup>, Васильев Н.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Московский государственный областной университет

<sup>2</sup>ГосНИИ биологического приборостроения (г. Москва)

### **ВЛИЯНИЕ ФОСФОРСОДЕРЖАЩИХ СИНЕРГИСТОВ НА ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЮ КОМПЛЕКСОВ ЕВРОПИЯ И ИХ УСТОЙЧИВОСТЬ ВО ВРЕМЕНИ**

*Аннотация.* Исследовано влияние фосфорсодержащих соединений на процессы комплексообразования ионов европия с фторированным карбазолсодержащим тетракетонном (4,4,4-Трифтор-1-[6-(4,4,4-трифтор-3-оксобутаноил)-9Н-карбазол-3-ил]-1,3-бутандион), люминесцентно-спектральные свойства и устойчивость образующихся комплексов во времени. Выявлено, что среди фосфорсодержащих синергистов люминесценции наиболее сильное воздействие оказывает триоктилфосфиноксид. Вместе с тем, влияние более объемного трифенилфосфиноксида на люминесцентные характеристики имеет долговременный характер, что объясняется снижением стейкинг-эффектов плоских карбазольных циклов.

*Ключевые слова:* иммунофлуоресцентный анализ, фосфорсодержащие синергисты люминесценции, комплексы европия, спектрофлуорометрия, фторированные β-дикетоны, комплексообразование.

***T. Kostryukova<sup>1,2</sup>, O. Loginova<sup>1</sup>, N. Vasiliev<sup>1</sup>,***

*<sup>1</sup>Moscow State Regional University (Moscow, Russia)*

*<sup>2</sup>State Scientific Center 'State Research Institute of Biological Engineering', Moscow*

### **INFLUENCE OF PHOSPHORUS-CONTAINING SYNERGISTS ON THE LUMINESCENCE OF EUROPIUM COMPLEXES AND THEIR TIME STABILITY**

*Abstract.* We report the influence of phosphorus-containing compounds on the process of complexation of europium ions with fluorinated carbazole-containing tetraketone (4,4,4-Trifluoro-1-[6-(4,4,4-trifluoro-3-oxobutanoyl)-9H-carbazole-3-yl]-1,3-butanedione) and luminescence-spectral properties and stability of the complexes in time. It is found that trioctylphosphineoxide has the strongest impact among phosphorus-containing synergists on the luminescence;

---

© Кострюкова Т.С., Логинова О.Д., Васильев Н.В., 2014.

however, the influence of larger triphenylphosphineoxide on luminescent characteristics is of long-term nature, which is due to lower stacking effects of flat carbazole cycles.

*Key words:* immunofluorescence assay, phosphorus-containing synergists on the luminescence, europium complexes, spectrofluorimetry, ecological analysis, fluorinated  $\beta$ -diketones, complexation.

Изучение люминесцирующих комплексов европия имеет существенную теоретическую и прикладную значимость в связи с использованием этих супрамолекулярных систем в современном медико-биологическом анализе в качестве реагентов для иммунофлуоресцентного анализа. В иммунофлуоресцентном анализе с временным разрешением максимум использования светового потока достигается применением системы «Eu<sup>3+</sup> – фторированный ароматический  $\beta$ -дикетон – синергист люминесценции» (технология лантанидного иммунофлуоресцентного анализа с временным разрешением – DELFIA™) [6; 12].

Наиболее известным флуорохромом, находящим применение в практике иммунофлуоресцентного анализа, является 2-нафтоилтрифторацетон, обеспечивающий высокие значения интенсивности люминесценции анализируемых растворов, однако не обеспечивающий высокие уровни связывания иона европия [12]. В настоящее время в качестве ароматических и гетероароматических лигандов все чаще рассматриваются соединения, содержащие два  $\beta$ -дикетонатных фрагмента – тетракетоны, что определяет повышенные константы связывания европия [2; 4; 13-14]. В качестве синергистов люминесценции, как правило, используются донорные соединения, в том числе фосфорсодержащие. Наи-

более часто в качестве такого реагента применяется триоктилфосфиноксид (ТОФО), активность которого связана с его повышенной гидрофобностью и, как следствие этого, способностью вытеснять воду (тушителя люминесценции) из внутренней сферы комплекса. Изучение совместного комплексообразования  $\beta$ -дикетонных и фосфорсодержащих аддендов проведено в ряде исследований и описано в обобщающих статьях и обзорах [3; 11].

Комплексообразование фторированного карбазолсодержащего тетракетона (4,4,4-трифтор-1-[6-(4,4,4-трифтор-3-оксобутаноил)-9Н-карбазол-3-ил]-1,3-бутандион, см. рис.1) и люминесценция этого комплекса в присутствии триоктилфосфиноксида (**I**) ранее отмечались в работах [5-6; 8]. Лиганд (**L**) тетрадентатен и образует двудерный комплекс с европием, аналогично показанному в работе [3]. При исследовании системы «L: Eu<sup>3+</sup>: ТОФО» с соотношениями 3:2:6 выявлено, что через один час после смешивания реагентов образуется активно люминесцирующий комплекс, значения интенсивности люминесценции которого в  $\approx 400$  раз выше, чем у комплекса без синергиста (табл. 1). Таким образом, в условиях эксперимента образуется разнолигандный комплекс, в котором вода «вытеснена» гидрофобными молекулами ТОФО.

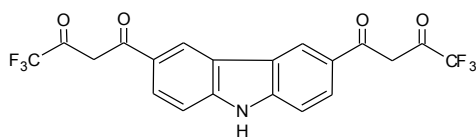


Рис. 1. Химическая формула 4,4,4-трифтор-1-[6-(4,4,4-трифтор-3-оксобутаноил)-9Н-карбазол-3-ил]-1,3-бутандиона (L)

Однако существует некоторое свойство люминесценции изучаемого комплекса, которое снижает возможности его применения в различных вариантах иммунофлуоресцентного анализа – это невысокая устойчивость люминесценции во времени. Так, через сутки интенсивность люминесценции снижается в  $\approx 4$  раза, через 14 суток падает почти на два порядка, а через 35 суток – более чем в 200 раз. При этом тушение люминесценции осуществляется без падения времени жизни люминесценции, то есть происходит так называемое тушение первого порядка [9]. Причиной такого тушения

может являться стейкинг-взаимодействие, которое характерно для многих супрамолекулярных систем, содержащих плоские ароматические или псевдоароматические системы [10].

Стейкинг-взаимодействия  $\pi$ -систем заключаются в упорядочивании хаотически размещенных в пространстве ароматических ядер («складывание в стопку»); они имеют энергии 5-50 Дж/моль и могут приводить как к увеличению интенсивности люминесценции [1; 7], так и к эффективному тушению люминесценции за счет безызлучательных процессов [5]. Тушение люминесценции комплекса может являться результатом стейкинг-взаимодействия карбазольных ароматических систем, происходящего во времени и приводящего к безызлучательному поглощению квантов.

В качестве синергистов комплексообразования в настоящей работе исследовались следующие распростра-

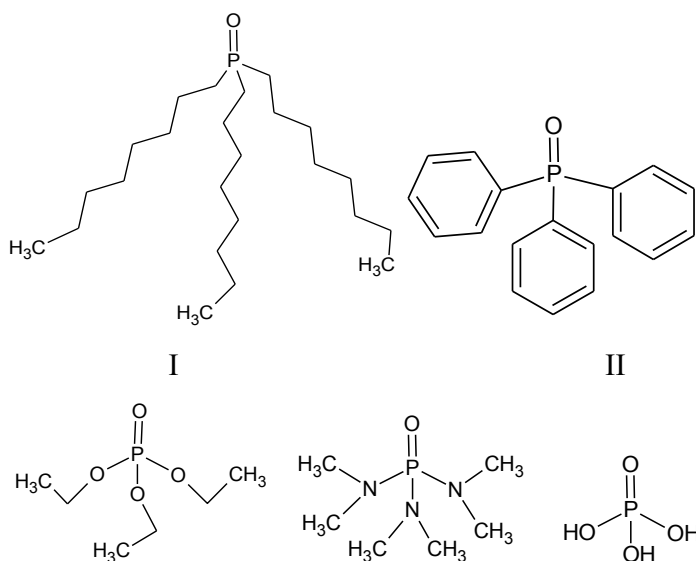


Рис. 2. Фосфорсодержащие синергисты комплексообразования: триэтилфосфиноксид ТОФО (I), трифенилфосфиноксид (II), триэтилфосфат (III), гексаметапол (IV) и фосфорная кислота (V).

ненные фосфорсодержащие вещества: триоктилфосфиноксид (ТОФО), трифенилфосфиноксид, триэтилфосфат, гексаметапол и фосфорная кислота (см. рис. 2). Изученные вещества существенно отличаются по своим донорным свойствам, объему, гидрофобности, устойчивости, растворимости в водных растворах и т.д. Оказалось, что все приведенные со-

единения менее эффективны в сравнении с (I) как синергисты комплексообразования лиганда (L) (табл. 1). Наименее эффективны фосфорная кислота (V) и ее производные (III, IV). Следует отметить, что эти соединения хотя и проявляют донорные свойства, но не обладают существенной гидрофобностью для вытеснения воды из сфер комплексообразования.

Таблица 1

### Люминесценция комплекса (L):Eu<sup>3+</sup> в присутствии фосфорсодержащих веществ во времени

Синергист	I <sub>380</sub> <sup>615</sup> , отн.ед.			
	1 час	1 сутки	14 суток	35 суток
ТОФО (I)	2279390	589349	34550	8100
ТФФО (II)	124990	80265	71608	54935
ТЭФ (III)	9309	912	200	124
ГМП (IV)	7564	5816	2650	1124
ФК (V)	2584	1040	600	210
Контроль (отсутствие синергистов)	6002	4440	1800	630

Тем не менее, при необходимости длительного использования комплексов можно рекомендовать в качестве синергиста люминесценции ТФФО. Так, за 35 суток интенсивность люминесценции снизилась на 56%, что кардинально отличается от других изучаемых примеров, и в последующем ее снижение во времени продолжалось незначительно (рис. 3). Молекулы ТФФО гидрофобны, являются объемными и конформационно жесткими, в отличие от молекул других изученных веществ, в том числе от ТОФО. По-видимому, объем и жесткость молекул ТФФО препятствует медленно развивающимся процессам стейкинг-взаимодействия плоских карбазольных лигандов.

### Методика изучения влияния синергистов на устойчивость и люминесцентные свойства комплексов Eu<sup>3+</sup> с лигандом (L)

В 6 пробирок помещали 1,9 мл бидистиллированной воды, добавляли 30 мкл раствора лиганда (L) с концентрацией 10<sup>-3</sup> моль/л в 1,4-диоксане, 20 мкл раствора Eu<sup>3+</sup> с концентрацией 10<sup>-3</sup> моль/л в 10<sup>-3</sup> HCl. В пробирки 1-5 добавляли по 60 мкл раствора фосфорсодержащего синергиста с концентрацией 10<sup>-3</sup> моль/л в этаноле, в 6-ю контрольную пробирку синергист не добавлялся. Пробирки выдерживали 1 час при комнатной температуре в отсутствие освещения. Затем изучали люминесцентные свойства полученных растворов комплексов на микропланшетном ридере «Varioscans Flash» (см. данные табл. 1).

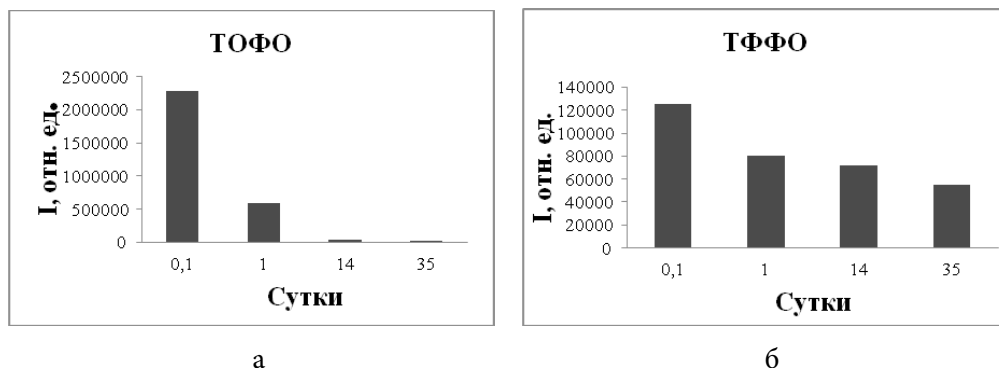


Рис. 3. Сравнительная устойчивость комплекса (L):Eu<sup>3+</sup> в присутствии ТОФО (а) и ТФОФО (б)

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Буквецкий Б.В. Кристаллическая структура 3-фенилтиопентан-2,4-дионата дифторида бора: стейкинг взаимодействие и люминесценция ацетилацетонатов дифторида бора / Б.В. Буквецкий, Е.В. Федоренко, А.Г. Мирочник и др. // Журн. структурной химии. – 2007. – Т. 48 (№ 6). – С. 1214-1217.
2. Васильев Н.В. Синтез фторированных тетракетонов и дикетозэфиров и люминесцентно-спектральные свойства их комплексов с ионами лантаноидов / Н.В. Васильев, Д.В. Романов, А.И. Лямин и др. // Известия РАН. Сер. «Химия». – 2006. – № 2. – С. 269-273.
3. Егорова А.В. Сенсibilизированная люминесценция ионов лантанидов и ее применение в биоанализе / А.В. Егорова, Ю.В. Скрипинец, Д.И. Александрова и др. // Методы и объекты химического анализа. – 2010. – Т.5 (№ 4). – С. 180-201.
4. Кострюкова Т.С. Синтез и люминесцентно-спектральные свойства фторированных бензогетероциклических β-дикетонатов и их комплексов с европием / Т.С. Кострюкова, Н.П. Ивановская, А.И. Лямин и др. // Журн. общей химии. – 2012. – Т. 82 (№ 3). – С. 462-467.
5. Кострюкова Т.С. Фторсодержащие β-дикарбонильные бензогетероциклические соединения для экологического анализа биоагрязнителей: дисс. ... канд. химич. наук. – Москва, 2011. – 177 с.
6. Кострюкова Т.С., Васильев Н.В. Перспективы развития химии реагентов для иммунофлуоресцентного анализа и клинической диагностики заболеваний // Вестник Московского государственного областного университета. Серия: Естественные науки. 2011. № 5. С. 54-59.
7. Мирочник А. Г. Фото-, механо- и термостимулированные процессы в комплексных соединениях лантаноидов и р-элементов : дисс. ... докт. химич. наук. – Владивосток, 2007. – 438 с.
8. Романов Д.В. Комплексообразующие дибензосодержащие пятичленные циклические соединения, содержащие два симметричных бета-дикарбонильных заместителя с фторированными радикалами: патент РФ № 2296756 / Д.В. Романов, А.И. Лямин, Н.П. Ивановская и др. (заявка от 17.05.2005 г., дата публикации: 10.04.2007 г.)
9. Сизых А.Г., Слюсарева Е.А. Тушение люминесценции в жидких растворах. – Красноярск: Красноярский ун-т, 2003. – 26 с.
10. Сид Дж.В., Этвуд Дж.Л. Супрамолекулярная химия: в 2-х т. Т. 1. – М.: Академкнига, 2007. – 480 с.
11. Яцимирский К.Б. Химия комплексных соединений редкоземельных элементов / К.Б. Яцимирский, Н.А. Костромина, З.А. Шека и др. – Киев: Наукова думка,

1966. – 494 с.
12. Hemilla I. Fluoroimmunoassay and immunofluorometric assay // *Clin. Chem.* – 1985. – V. 31. – P. 359-370.
13. Wu F.B., Zhang C. A new europium  $\beta$ -diketonate chelate for ultrasensitive time-resolved fluorescence immunoassays // *Anal. Biochem.* – 2002. – 311. – P. 57-67.
14. Yuan J., Matsumoto K. A new tetradentate  $\beta$ -diketonate-europium chelate that can be covalently bound to proteins or time-resolved fluoroimmunoassay // *Anal. Chem.* – 1998. – 70. – P. 596-601.